

Preskrba s tkivi na Očesni kliniki v Ljubljani

Eye banking at Ljubljana Eye hospital

Petra Schollmayer, Andreja Veselica, Špela Štunf, Vladimir Pfeifer

Očesna klinika,
Univerzitetni klinični
center Ljubljana,
Grablovičeva 46,
Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

asist. dr. Petra
Schollmayer, dr. med.
Očesna klinika,
Univerzitetni klinični
center Ljubljana
Grablovičeva 46,
Ljubljana
e mail: petra.
schollmayer@gmail.com

Ključne besede:

očesna banka, roženica,
sklera, amnijska
membrana, presaditev

Key words:

eye banking,
cornea, sclera,
amniotic membrane,
transplantation

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81: 1-45-50

Prispelo: 9. feb. 2012,
Sprejeto: 15. apr. 2012

Izvilleček

Izhodišča: Poročati o dejavnosti preskrbe s tkivi na Očesni kliniki v Ljubljani.

Metode: Pregled dokumentacije očesne banke na Očesni kliniki Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana od 1. 7. 2009 do 31. 12. 2011.

Rezultati: Na Očesni kliniki izvajamo naslednje postopke preskrbe s tkivi: odvzem, evalvacijo, shranjevanje, dodeljevanje in uporabo (presaditev).

V dveh letih in pol po akreditacijskem postopku smo pri 135 odvzemih pridobili 262 roženic. Odvzemi so potekali po vsej Sloveniji. Povprečna starost darovalcev je bila 53,4 let in povprečna starost prejemnikov 58 let. Povprečni čas od smrti do odvzema je pri mrtvih dajalcih znašal 8,3 ure, povprečni čas hranjenja roženic 2,8 dni. V dveh letih in pol smo presadili 148 (56,5 %) vseh roženic. Vzroki za neprimernost donorske roženice za presaditev so bili: neprimeren endotel (19,5 % vseh roženic), pozitivni rezultati seroloških testiranj (9,5 %), stromalne motnjave (7,2 %), obsežna okvara epitela z izrazitim edemom strome (4,2 %), izrazit gerontokson (3 %) ter drugo (0,8 %). Indikacije za presaditev so bili keratokonus (26,3 %), pooperativna bulozna keratopatija (24,3 %), brazgotine po keratitisu (12,2 %) ali po poškodbah (9,5 %), zamotnitev presadka (9,5 %), perforirani ulkus (4,7 %), Fuchs-ova endotelna distrofija (4,7 %), druge distrofije roženice (4 %) ter stanje po kemični poškodbi (2 %).

Zaključek: Preskrba s tkivi na Očesni kliniki je akreditirana dejavnost z nadzorovanimi postopki in dokumentacijo ter naraščajočim številom odvzemov in presaditev.

Abstract

Aim: To present the eye banking at the Eye Hospital Ljubljana.

Methods: Review of the documentation of the Eye Bank at the Eye Hospital, University Medical Centre Ljubljana in the period from 1 July 2009 to 31 December 2011.

Results: The Eye Bank activities at the Eye Hospital Ljubljana include retrieval, evaluation, storage and transplantation of corneal and scleral tissue, as well as of amniotic membrane. In the observed 30 months after the accreditation process, 135 retrievals were performed all over the country, harvesting 262 corneas. Mean donor age was 53.4 years, mean recipient age was 58 years. The death-to-preservation time (DPT) in post-mortem donors was 8.3 hours on average, while the storage time was 2.8 days on average. Of the harvested corneas, 148 (56.5 %) were transplanted. The tissue was not selected for transplantation because of poor endothelium (19.5 % of all harvested corneas), positive serology (9.5 %), stromal opacities (7.2 %), extensive epithelial defect with stromal edema (4.2 %), significant arcus senilis (3 %) or other reasons (0.8 %). Indications for transplantation included: keratokonus (26.3 %), postoperative bullous keratopathy (24.3 %), post-infectious scar (12.2 %), post-traumatic scar (9.5 %), late graft failure (9.5 %), Fuchs' endothelial dystrophy (4.7 %), perforated corneal ulcer (4.7 %), chemical corneal injury (2 %) and corneal dystrophies other than Fuchs (4 %).

Conclusions: The Eye Hospital of Ljubljana has accredited eye banking activity with controlled and well-documented procedures, and an increasing number of retrievals and transplantations.

Slika 1: Shranjevalni medij za roženice Optisol-GS.



Uvod

Na Očesni kliniki v Ljubljani že več kot 30 let izvajamo presaditve. Ves ta čas tkiva sami pridobivamo in jih tudi sami shranjujemo. Število odvzemov tkiv in presaditev v zadnjih letih hitro narašča. Za uspešno transplantacijsko dejavnost je potrebna tako zadostna kot tudi kakovostna preskrba s tkivi ter urejen in nadzorovan dokumentacijski sistem, ki omogoča sledenje tkiv ter beleženje in odpravo neželenih dogodkov in reakcij. V članku poročamo o akreditaciji dejavnosti preskrbe s tkivi na Očesni kliniki v Ljubljani in o postopkih preskrbe s tkivi. Ukvarjamo se s pridobivanjem treh vrst tkiv: roženice, beločnice in amnijske membrane. Dejavnost preskrbe s tkivi zajema naslednje postopke: odvzem tkiv, mikrobiološko testiranje darovalcev, evalvacijo roženic, shranjevanje, dodeljevanje in uporabo (presaditev) tkiv.

Akreditacijski postopek

Na Očesni kliniki smo v okviru Univerzitetnega kliničnega centra (UKC) oktobra 2008 zaprosili za pridobitev dovoljenja za nadaljevanje dejavnosti preskrbe s tkivi in celicami pri Javni agenciji za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP). Za pridobitev dovoljenja smo v skladu z nacionalno zakonodajo¹⁻⁵ in smernicami Evropskega združenja očesnih bank (EEBA)⁶ izdelali nov, nadzorovan dokumentacijski sistem dejavnosti preskrbe s tkivi. Dokumentacija zajema standardne operacijske postopke (SOP), organizacijske predpise (OP) ter sistem sledenja in histovigilance, ki omogoča ugotavljanje, sporočanje in zbiranje podatkov o hudih neželenih dogodkih ali reakcijah pri darovalcih ali prejemnikih tkiv ter njihovo epidemiološko spremljanje.

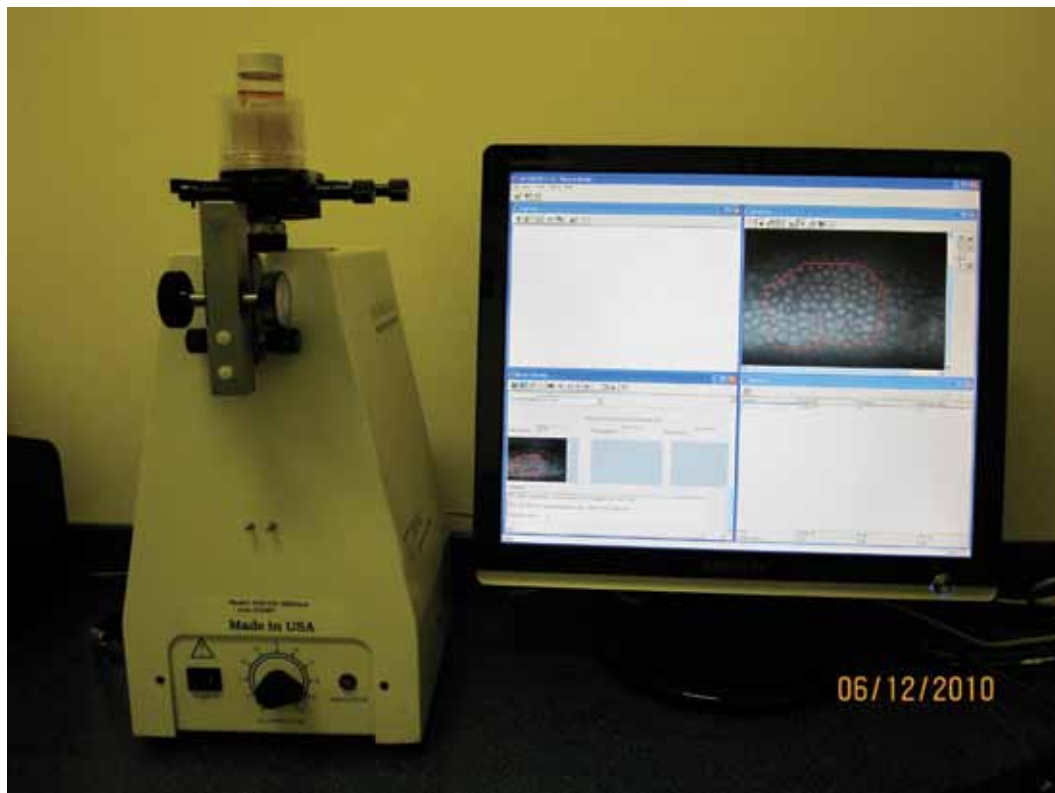
JAZMP je junija 2009 na Očesni kliniki opravila verifikacijski nadzorstveni pregled. Decembra istega leta smo prejeli dovoljenje za nadaljevanje opravljanja dejavnosti preskrbe s tkivi. Predvideni so tudi nadaljnji nadzorstveni pregledi JAZMP.

Očesna banka na Očesni kliniki v Ljubljani je članica Evropskega združenja očesnih bank (European Eye Bank Association EEBA).

Preskrba z roženicami in z beločnico

Roženice in beločnico pridobivamo pri večorganskih odvzemih, ki potekajo po vsej Sloveniji ali od mrtvih darovalcev v mrtvašnici UKC, pri katerih se odvzame le roženica in/ali beločnica (v nadaljevanju mrtvi darovalci). O možnih darovalcih nas obveščajo koordinatorji Slovenija-transplanta, ki glede na odsotnost morebitnih kontraindikacij darovalca označijo kot primerne za odvzem roženic in/ali beločnice. Koordinator Slovenija-transplanta tudi pridobi privolitev svojcev za odvzem. Starostna omejitev darovalcev je 1 do 75 let, tkiva pa lahko odvzamemo do 12 ur po smrti. Ekipo za odvzem sestavljata zdravnik specializant oftalmologije ali specialist oftalmolog in diplomirana medicinska sestra ali zdravstveni tehnik. Zdravnik že na mestu odvzema izreže korneoskleralni gumb ter ga shrani v posodici s shranjevalnim medijem. Roženice in beločnico shranjujemo v očesni banki na Očesni kliniki. Roženice shranjujemo do 7 dni v hipotermičnem shranjevalnem mediju Optisol-GS (Slika 1) ali Eusol-C pri 4 °C (±2 °C). Beločnico shranjujemo v 70-odstotnem

Slika 2: Spekularni mikroskop (HAI Eyebank Specular Microscope System, HAI Laboratories, Inc., Lexington, MA; US) za oceno endotela donorskih roženic.



alkoholu, prav tako pri 4°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$), do največ 1 leta.

Beločnica je v primeru ustreznih seroloških preiskav že primerna za presaditev, medtem ko je roženice potrebno še pregledati in oceniti, ali so primerne za presaditev in za katero vrsto presaditev so primerne. Roženice pregledamo makroskopsko, na špranjski svetilki ter s spekularnim mikroskopom (Slika 2). Makroskopsko in mikroskopsko ocenjujemo širino in enakomernost korneoskleralnega obroča, prisotnost epitelnih poškodb ali motnjav, transparentnost strome, prisotnost gerontoksona, število in izrazitost morebitnih stromalnih gub in stromalnega edema, znake endotelne distrofije ali poškodb endotela. S spekularnim mikroskopom ocenimo še morfologijo in gostoto endotelnih celic, ki mora znašati vsaj 2200 celic/ mm^2 , da je roženica primerna za elektivno keratoplastiko (Slika 3, 4).

Preskrba z amnijsko membrano

Odvzem amnijske membrane poteka v porodnišnici po porodu s carskim rezom 1- do 2-krat letno. Darovalka amnijske membrane pred odvzemom podpiše privolitev

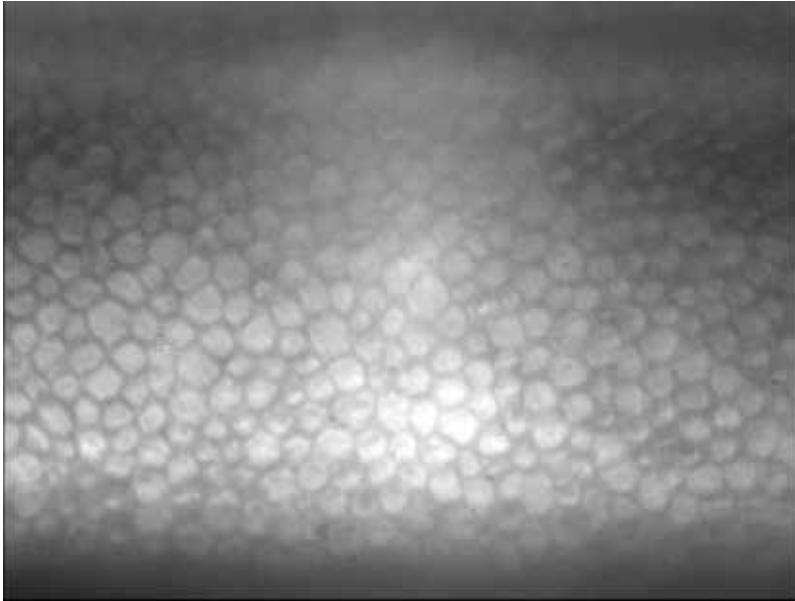
za odvzem amnijske membrane in vzorcev krvi za serološko testiranje. Z obdelavo ene amnijske membrane lahko pridobimo 20–40 presadkov, ki jih hranimo na Zavodu za transfuzijsko medicino (ZTM) v posebnem mediju na -80°C do največ treh let.

Serološka testiranja

Da bi preprečili prenos nalezljivih bolezni iz darovalca na prejemnika, je potrebno opraviti serološke preiskave darovalčeve krvi. Kri odzamemo mrtvim darovalcem do 24 ur po smrti. Po zakonu so obvezna testiranja na okužbo z virusom humane imunske pomanjkljivosti (HIV), z virusom hepatitisa B in C ter s sifilisom. Do prejetja rezultatov je tkivo shranjeno v t. i. karanteni.

Metode

Pregledali smo dokumentacijo očesne banke in zabeležili vse odvzeme in presaditve roženic v obdobju dveh let in pol po ukrepih za pridobitev akreditacije med 1. 7. 2009 in 31. 12. 2011. Zbrali smo podatke o času in kraju odvzemov, deležu večorganskih odvzemov, starosti darovalcev in preje-



Slika 3: Slika endotela roženice, ki je primerna za presaditev (HAI Eyebank Specular Microscope System, HAI Laboratories, Inc., Lexington, MA; US).

mnikov, času od smrti do odvzema roženic (DPT), času hranjenja in gostoti endotelne celice (ECD). Evalvirali smo vpliv starosti darovalca ter DPT na ECD. Poročamo o deležu presajenih roženic, o vzrokih za neprimerenost roženic za presaditev in o indikacijah za presaditev.

Rezultati

V obdobju dveh let in pol po akreditacijskem postopku očesne banke na Očesni kliniki v Ljubljani smo med 1. 7. 2009 in 31. 12. 2011 opravili 135 odvzemov, pri katerih smo pridobili 262 roženic. Od tega je bilo 61 (45,2 %) odvzemov multiorganskih, 74

(54,8 %) odvzemov pa pri mrtvih darovalcih. Večinoma (60 %) so odvzemi potekali v večernih in nočnih urah med 20. uro zvečer in 8. uro zjutraj. Roženice smo odvezemali po vsej Sloveniji: v Ljubljani (121), Celju (5), Mariboru (3), Murski Soboti (3), Novem mestu (1), na Jesenicah (1) in v Novi Gorici (1).

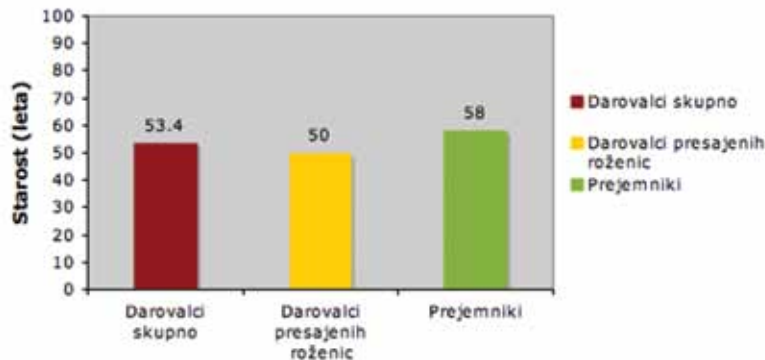
Povprečna starost vseh darovalcev je bila 53,4 let (6–75 let), in sicer povprečna starost večorganskih darovalcev 48 let (6–74 let) in mrtvih darovalcev 58 let (31–75 let). Povprečna starost darovalcev, katerih roženice smo tudi presadili, je znašala 50 let (6–75 let) in povprečna starost prejemnikov teh presadkov 58 let (1–88 let) (Slika 5). Povprečni čas od smrti darovalca do odvzema roženic (DPT – *angl.* death to preservation time) je pri mrtvih darovalcih znašal 8,3 ure. Pri večorganskih odvzemih so bile roženice odvzete najkasneje takoj po prekinitvi vzdrževanja krvnega obtoka, zato je DPT v teh primerih enak 0 ur. Tako je povprečni DPT pri vseh odvzemih skupaj, pri večorganskih in pri mrtvih darovalcih, znašal 4,5 ur.

Povprečni čas hranjenja roženic je bil 2,8 dni (razpon 0,5–6,5 dni). Povprečna gostota endotelne celice (ECD) donorskih roženic je bila 2549 celic/mm². Našli smo srednje močno negativno povezavo med starostjo darovalca in ECD, ki je visoko statistično značilna ($p < 0,001$; korelacijski koeficient $r = -0,360$). Z vsakim letom starosti darovalca je bila gostota endotelne celice manjša za približno 10 celic/mm². Povezave med gostoto endotelne celice (ECD) in časovnim presledkom od smrti do odvzema (DPT) nismo zasledili ($r < 0,01$).

V opazovanem obdobju smo presadili 148 (56,5 %) vseh roženic, od tega 79 % roženic večorganskih darovalcev in le 37 % roženic mrtvih darovalcev. Vzroki za neprimerenost donorskih roženic za presaditev so bili neprimeren endotel (19,5 % vseh roženic), pozitivni rezultati seroloških testiranj (9,5 %), stromalne motnjave (7,2 %), obsežne epitelne poškodbe z izrazitim edemom strome (4,2 %), izrazit gerontokson (3 %) ter drugo (0,8 %). Roženice mrtvih darovalcev so imele v primerjavi z roženicami večorganskih odvzemov slabši epitel in bolj edemasto

Slika 4: Cornea guttata – roženica ni primerna za presaditev: (HAI Eyebank Specular Microscope System, HAI Laboratories, Inc., Lexington, MA; US).





Slika 5: Prikaz povprečne starosti darovalcev in prejemnikov.

stromo z gubami Descemetove membrane, zato so bile redkeje primerne za presaditev.

Indikacije za presaditev so bile: keratokonus (26,3 %), pooperativna bulozna keratopatija (24,3 %), brazgotine po keratitisu (12,2 %) ali po poškodbah (9,5 %), zamotnitev presadka (9,5 %), perforirani ulkus (4,7 %), Fuchsova endotelna distrofija (4,7 %), druge distrofije roženice (4 %) ter stanje po kemični poškodbi oči (2 %). V teh dveh letih in pol nismo zabeležili nobenega zgodnjega propada presadka.

Razpravljanje

Očesna banka na Očesni kliniki v Ljubljani sodi med manjše do srednje velike očesne banke med članicami EEBA.⁷ Približno 30 % očesnih bank EEBA za shranjevanje roženic uporablja hipotermični medij, pretežno Optisol GS ali Eusol C.⁷ Povprečna starost darovalcev pri nas je nekoliko nižja, kot je povprečna starost darovalcev očesnih bank članic EEBA, ki uporabljajo hipotermični medij.^{7,8} Naši prejemniki so v povprečju starejši od darovalcev. Verjetno je to zato, ker imamo med darovalci velik delež večorganskih, ki so v povprečju mlajši od mrtvih darovalcev. Pri nas roženice pridobivamo z izrezom roženice in beločnice na mestu odvzema. Metoda odvzema (korneoskleralna ekscizija vs. enukleacija) pa po študiji Cornea Donor Study ne vpliva na preživetje presadka.⁹

Čas od smrti do odvzema (DPT) pri nas znaša 4,5 ur in je krajši, kot je povprečni DPT pri ostalih članicah EEBA (7,14 ur).⁷ Daljši DPT je povezan s pogostejšimi epitel-

nimi nepravilnosti, epitelnimi poškodbami, edemom strome in gubami Descemetove membrane.^{11,12} Pri daljšem DPT je tudi težje evalvirati endotel, vitalnost endotelnih celic pa je znižana.¹² Glede časa hranjenja roženic po odvzemu najdemo v literaturi različne podatke o tem, ali čas hranjenja vpliva na propad endotelnih celic.^{8,13} Opažamo, da daljši čas hranjenja vpliva predvsem na stanje epitela presadka pred presaditvijo ter na reepitelizacijo in edem presadka po presaditvi. Za potrditev teh opažanj so potrebne dodatne raziskave.

V naši študiji smo ugotovili manjšo gostoto endotelnih celic pri starejših darovalcih, kar ustreza naravnemu propadanju endotelnih celic s staranjem.^{14,15} Kljub povprečno nižjemu številu endotelnih celic pri starejših darovalcih starost darovalcev z več ali manj kot 66 let v študiji Cornea Donor Study ne vpliva na 5-letno preživetje roženičnega presadka.¹⁶

Delež presajenih roženic pri nas je primerljiv z očesnimi bankami v srednji Evropi.^{7,17}

Zaključki

Očesna klinika Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani je akreditirana ustanova za preskrbo z očesnimi tkivi. Dejavnost poteka po standardnih operacijskih postopkih z nadzorovano dokumentacijo. Preskrba z roženicami v naši očesni banki je v času po akreditacijskem postopku primerljiva z ostalimi očesnimi bankami članicami EEBA.

Literatura

1. Zakon o odvzemu in presaditvi delov človeškega telesa zaradi zdravljenja (ZOPDCT), Ur.l. RS, št. 12/2000
2. Zakon o kakovosti in varnosti človeških tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje (ZKVČTC), Ur.l. RS, št. 61/2007
3. Directive 2004/23/EC of the European parliament and the council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells (Dosegljivo na: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:102:0048:0058:en:PDF>)
4. COMMISSION DIRECTIVE 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells (Dosegljivo na: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:038:0040:0052:EN:PDF>)
5. COMMISSION DIRECTIVE 2006/86/EC of 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells (Dosegljivo na: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:294:0032:0050:EN:PDF>)
6. EEBA Medical Special Interest Group: D. Ponzin (Chair), E. Trias, G. Thuret. Agreement on Medical Standards. Reviewed annually. Last revision: Jan 2008. (Dosegljivo na: www.eeba.eu)
7. European Eye Bank Association. Annual Directory, twentieth edition, January 2012 (published at the meeting of the EEBA in Rotterdam, Netherlands).
8. Grabska-Liberek I, Szaflik J, Brix-Warzecha M. The importance of various factors relating to the morphological quality of corneas used for PKP by the Warsaw Eye Bank from 1996 to 2002. *Ann Transplant.* 2003; 8(2): 26–31.
9. Sugar J, Montoya M, Dontchev M, Tanner JP, Beck R, Gal R, et al. Cornea Donor Study Group. Donor risk factors for graft failure in the cornea donor study. *Cornea.* 2009 Oct; 28(9): 981–5.
10. Sugar A, Gal RL, Beck W, Ruedy KJ, Blanton CL, Feder RS et al: Baseline donor characteristics in the Cornea Donor Study. *Cornea,* 2005; 24: 389–396.
11. Van Meter WS, Katz DG, White H, Gayheart. Effect of death-to-preservation time on donor corneal epithelium. *R.Trans Am Ophthalmol Soc.* 2005; 103: 209–22
12. Cernak A, Cernak M. Is cornea suitable for transplantation when death to preservation time is more than 14 hours? *EEBA Congress.* 2010 Jan 22–23. Barcelona, Španija.
13. Terry MA, Shamie N, Straiko MD, Friend DJ, Davis-Boozer D. Endothelial Keratoplasty The Relationship between Donor Tissue Storage Time and Donor Endothelial Survival. *Ophthalmology.* 2011 Jan; 118(1): 36–40.
14. Laule A, Cable MK, Hoffman CE et al: Endothelial cell population changes of human cornea during life, *Arch Ophthalmol* 96: 2031–2035, 1078
15. Hashemian MN, Moghimi S, Fard MA, Fallah MR, Mansouri MR. Corneal endothelial cell density and morphology in normal Iranian eyes. *BMC Ophthalmol.* 2006 Mar 6; 6: 9.
16. Cornea Donor Study Investigator Group, Gal RL, Dontchev M, Beck RW, Mannis MJ, Holland EJ, Kollman C et al: The effect of donor age on corneal transplantation outcome results of the cornea donor study. *Ophthalmology.* 2008 Apr; 115(4): 620–626.
17. Schrage N, Reinhard T, Seitz B, Hermel M, Böhringer D, Reinshagen H; The 2009 performance report of the German cornea banks. *Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft. Ophthalmologie.* 2011 Mar; 108(3): 278–80.